

جداسازی آهن از کائولن رضاآباد دامغان با استفاده از *Aspergillus niger*

سید محمد رئوف حسینی^{۱،۳}، محمد پازوکی^{۲*}، محمد رنجبر^{۳،۴}

۱. دانشجوی دوره دکتری فرآوری مواد معدنی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۲. دانشیار پژوهشکده انرژی، پژوهشگاه مواد و انرژی، (mpazouki@merc.ac.ir)*
۳. پژوهشکده صنایع معدنی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۴. استاد گروه مهندسی معدن، دانشگاه شهید باهنر کرمان

چکیده

کائولن یک کانی رسی است که به علت داشتن یک سری خصوصیات ویژه، دارای استفاده‌های گسترده صنعتی است. یکی از ویژگیهای مهم این ماده، رنگ سفید آن است. نخایر گسترده‌ای از کائولن در کشور وجود دارد که متأسفانه به دلیل دارا بودن اکسیدهای آهن از شفافیت مناسبی برخوردار نیستند. در این تحقیق از روش انحلال زیستی اکسیدهای آهن توسط *Aspergillus niger* NCIM548 برای جداسازی ناخالصی موجود در کائولن استفاده شد و در پایان مدلی برای پیش‌بینی درصد جدایش آهن توسط این روش ارائه شد. روشی با استفاده از این روش در بهترین حالت منجر به جدایش ۲/۲ درصد از کل آهن موجود شد. نتایج بدست آمده برای ادامه مطالعات امیدوارکننده بود و در صورت بررسی عملکرد روش‌هایی دیگر از این قارچ و ایجاد شرایط بهینه، در تحقیقات آتی امکان افزایش میزان جداسازی آهن وجود دارد.

حقوق ناشر محفوظ است.

مشخصات مقاله

تاریخچه مقاله :

دریافت ۲۲ مرداد ۱۳۸۷
دریافت پس از اصلاحات ۲۶ فروردین ۱۳۸۸
پذیرش نهایی ۲۹ اردیبهشت ۱۳۸۸

کلمات کلیدی :

Aspergillus niger

کائولن

اکسید آهن

فروشوی زیستی

* عهده دار مکاتبات

۱- مقدمه

لیداندهای کمپلکس دهنده با فلزات [۴]، احیای مستقیم Fe(III) و تولید ناقلین الکترون، آهن موجود در کانی-های رسی را استخراج و جدا کنند. در این تحقیق، جداسازی آهن از کائولن توسط قارچ NCIM 548 - *Aspergillus niger* با استفاده از طراحی آزمایش مورد مطالعه قرار گرفته است. قارچ‌ها می‌توانند با ترشح اسیدهای آلی (اسید اگزالیک، سیتریک و گلوکونیک)، آمینو اسیدها و دیگر متابولیت‌ها به داخل محیط کشت خود، آهن موجود در رس را به صورت کمپلکس محلول از آن خارج کنند.

۲- مواد و روش کار

۲-۱- میکروارگانیزم

سویه مورد استفاده در این آزمایش‌ها، NCIM 548 *Aspergillus niger* بود که از طرف انستیتو تکنولوژی هند هدیه شد.

۲-۲- نمونه کائولن

نمونه کائولن توسط شرکت مهرخاک و از ذخیره‌ای واقع در منطقه دامغان استان سمنان تامین گردید. این ذخیره به علت دارا بودن مقادیر زیاد ناخالصی اکسید-آهن (Fe_2O_3 ۱۱٪) از نظر صنعتی غیر قابل استفاده است.

۲-۳- محیط کشت

برای رشد و نگهداری میکروارگانیزم‌ها از محیط جامد حاوی ۳۰ g/L عصاره مالت، ۳ g/L پپتون گوشت، و ۱۵ g/L آگار در pH = ۵/۶ استفاده شد. برای کشت میکروارگانیزم‌ها از محیط کشت ترکیبی [۵] حاوی (گرم در لیتر): ساکارز، ۱۲۰؛ NH_4NO_3 ، ۴۵؛ KH_2PO_4 ، ۱۰^{-۴}؛ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۳؛ $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۱۰^{-۴} و $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۲۵×۱۰^{-۵}؛ استفاده شد.

بدلیل اینکه آهن (Fe) پس از اکسیژن، سیلیکون و آلومینیم، چهارمین عنصر فراوان در پوسته زمین است (۶٪ از کل)، حضور گسترده آن در رس‌ها و کانی‌های رسی نباید تعجب برانگیز باشد [۱]. کانی‌های رسی از مهمترین مواد سازنده سطح زمین هستند که نقش مهمی در وجوه مختلف زندگی، از غلبه بر خصوصیات خاک و رسوبات گرفته تا استفاده‌های فراوان تجاری و صنعتی دارند [۲]. کائولن از جمله این کانی‌های رسی است که عمدتاً از کائولینیت تشکیل شده است و به عنوان ماده اصلی در تهیه ظروف چینی، تولیدات سرامیکی و کاشی-های کف و دیوار بکار می‌رود. لیکن، رسوب اکسی هیدروکسیدهای آهن همزمان با تشکیل کائولن، بر کیفیت این کانی تاثیر نامطلوب داشته و باعث کاهش خاصیت نسوزی، شفافیت و سفیدی آن می‌شود [۳،۴]. برای جداسازی ناخالصی‌های Fe(III) از کائولن، روش‌های فیزیکی و شیمیایی مختلفی مانند فلوتاسیون، جدایش مغناطیسی شدت بالا و لیچینگ با استفاده از عوامل شیمیایی گوناگون بکار گرفته شده است [۳]. اکسی هیدروکسیدهای آهن را می‌توان به نحو مطلوبی با استفاده از انحلال احیایی CBD (سیترات-بی‌کربنات-دی‌تیونایت) کاهش داد [۱]، اما استفاده از روش‌های شیمیایی باعث دگرگونی فازهای باقیمانده و کاهش مواد آلی موجود در کائولن شده [۱،۳] و تاثیرات سوء زیست-محیطی را به همراه دارد. بنابراین در سالهای اخیر استفاده از روشی میکروبی به منظور استخراج فلزات و جدایش ناخالصی‌های فلزی، به دلیل سادگی عملیات، پایین بودن هزینه سرمایه گذاری و انرژی و عاری بودن از آلودگی‌های زیست‌محیطی گسترش یافته است. همچنین استفاده از روش‌های زیستی و بکار گرفتن میکروارگانیزم‌ها به عنوان یک روش جدید و جایگزینی مناسب برای روش‌های شیمیایی در جداسازی ناخالصی آهن از کائولن به حساب می‌آید [۳]. مطالعات آزمایشگاهی و مشاهدات میدانی نشان داده‌اند که میکروبی‌ها می‌توانند با تولید اسیدهای آلی و معدنی، ایجاد

۲-۴- آزمایش‌های فروشویی زیستی

روش‌های قارچ از یک اسلنت آگار هفت روزه به محلولی منتقل شدند که حاوی ۰/۱٪ Tween 80 و ۰/۹٪ NaCl بود. پس از شمارش سویه‌ها در زیر میکروسکوپ، بخشی از آن به محیط کشت درون فلاسک‌ها اضافه شد طوری که غلظت اسپور در آنها به 10^6 spores/mL رسید. مقادیر ۲ و ۶ گرم از کائولن به ترتیب در روز اول و سوم آزمایش به فلاسک‌ها افزوده شد. آزمایش‌های فروشویی زیستی در فلاسک‌های ۲۰۰ میلی‌لیتری که حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت بود، با دوبرار تکرار انجام شد.

۲-۵- روش‌های اندازه‌گیری

برای اندازه‌گیری آهن قابل جدایش توسط فرایند فروشویی، نمونه کائولن، ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در HCl شش نرمال حرارت داده و هم زده شد [۳]. سپس، میزان آهن موجود در محلول با استفاده از روش 1,10-phenanthroline [۶] اندازه‌گیری شد. غلظت آهن مایع درون فلاسک‌ها نیز به همین روش [۶] اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری مقدار قند موجود در محیط کشت، نمونه مورد نظر پس از رقیق‌سازی، هیدرولیز شده و با استفاده از روش نلسون [۷] و سوموگای [۸] اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری زیست‌توده، در انتهای آزمایش‌ها فاز جامد درون فلاسک‌ها جدا شده و تفاوت وزن آن پس از خشک کردن در دمای 120°C و پس از سوزاندن زیست‌توده در دمای 170°C محاسبه شد.

۲-۶- طراحی آزمایش‌ها

طراحی آزمایش‌ها با استفاده از یک طرح فاکتوریل کامل [۹] و با دو متغیر، هرکدام در دو سطح انجام شد. متغیرها عبارت بودند از: چگالی پالپ و روز افزودن خاک به محیط کشت.

۳- ارائه نتایج و تحلیل یافته‌ها

از آنجا که آهن قابل حذف به صورت اکسیدها و

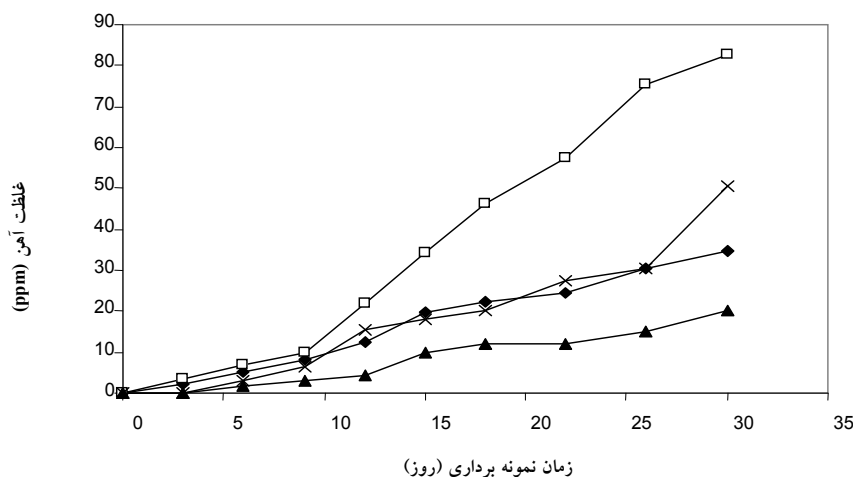
هیدروکسیدهای چسبیده به سطح ذرات بوده و توسط فروشویی با اسید هیدروکلریدریک قابل انحلال است، میزان آهن قابل انحلال از طریق فروشویی با اسید هیدروکلریدریک محاسبه شد که برابر با کل آهن موجود در نمونه بود که قبلاً توسط آنالیز XRF اعلام شده بود.

در این مطالعه توانایی قارچ *A. niger* NCIM548 در انحلال آهن از کائولن بررسی شد. نتایج آزمایش‌های انجام شده به مدت یک ماه در جدول (۱) آورده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، آزمایش‌هایی که خاک در شروع آزمایش به کشت اضافه شده است نتیجه بهتری را به دست داده‌اند، به طوری که در آزمایش اول که چگالی پالپ 20 g/L بود، غلظت آهن محلول به $34/63\text{ ppm}$ و میزان حذف آهن به $2/2\%$ رسید. غلظت بالاتر آهن، $82/73\text{ ppm}$ در آزمایش ۲ به علت بیشتر بودن مقدار خاک اضافه شده به کشت است (6 g). علت این است که در فلاسک‌هایی که خاک در شروع آزمایش به آنها اضافه گردیده است، میکروارگانیزم به تدریج با محیط کشت حاوی کائولن سازگار شده است، اما در فلاسک‌های دیگر، میکروارگانیزم به علت رشد در محیط عاری از رس، با تغییر ناگهانی شرایط محیط کشت در روز سوم (اضافه کردن کائولن) تا مدتی ناسازگار است. همچنین، با مراجعه به جدول (۱) مشاهده می‌شود، آزمایش‌هایی که خاک کمتری به آنها اضافه شده (چگالی پالپ 20 g/L) درصد حذف آهن بالاتر است. علت این پدیده، خاصیت چسبندگی ذرات رس و تجمع آنها و در نتیجه کاهش سطح تماس ذرات با اسیدهای ترشح شده به محیط کشت است.

افزایش تدریجی غلظت آهن برای تمام آزمایش‌ها در شکل (۱) مشاهده می‌شود. شیب بالای نمودار افزایش غلظت آهن مربوط به آزمایش دوم، نشان‌دهنده سرعت بالاتر انحلال آهن، $4/3\text{ g/L-day}$ ، در این حالت است، که علت آن افزایش چگالی پالپ در اثر افزایش مقدار خاک است. افزایش چگالی پالپ، با ثابت فرض کردن دانه بندی و ابعاد ذرات باعث افزایش سطح تماس بین فاز جامد و میکروارگانیزم شده و سرعت انحلال را افزایش می‌دهد [۱۰].

جدول (۱): شرایط آزمایشها و نتایج فروشویی با استفاده از *A. niger* NCIM548

Test NO.	Pulp Density(g/L)	Addition Day of Solid	Concentration of Dissolved Iron (ppm)	Iron Removal(%)	Sugar Consumption(%)
1	20	0	34.63	2.2	47
2	60	1	82.73	1.8	43
3	20	3	20.04	1.3	38
4	60	3	50.37	1.1	38



شکل (۱): افزایش غلظت آهن در طول یک ماه (◆ چگالی پالپ ۲۰ g/L و خاک در روز اول اضافه شده است، □ چگالی پالپ ۲۰ g/L و خاک در روز اول اضافه شده است، X چگالی پالپ ۶۰ g/L و خاک در روز سوم اضافه شده است، ▲ چگالی پالپ ۶۰ g/L و خاک در روز سوم اضافه شده است).

تواند با کمپلکس کردن و احیای آهن، آن را از رس خارج کند. این فرایند از طریق حمله مستقیم یونهای H^+ و تشکیل کمپلکس محلول $[Fe(C_2O_4)_3]^{3-}$ با نسبت اگزالات به آهن یک به سه است [۵]. بنابراین، سرعت کمتر انحلال آهن در روزهای اول آزمایش، احتمالاً به علت کم بودن اسیدیته محیط است. در روزهای بعد با کاهش pH محیط، سرعت انحلال افزایش یافته است.

پس از اتمام آزمایشها، مقدار زیست توده تولید شده اندازهگیری شد که برای آزمایشهای ۱ و ۲ به ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۲۲ گرم و برای آزمایشهای ۳ و ۴، ۰/۱۵ و ۰/۱۱ گرم بود.

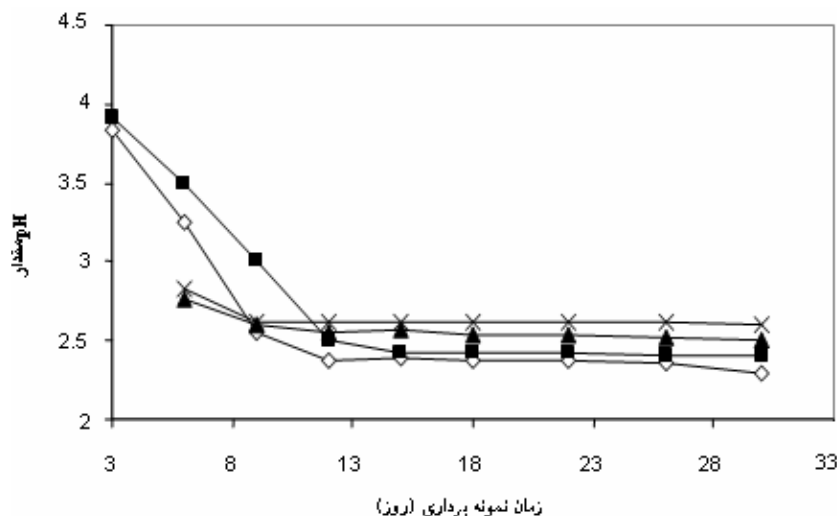
در نهایت، به منظور پیشبینی درصد حذف آهن از کائولن توسط *A. niger* NCIM548، دادههای حاصل توسط نرمافزار Design Expert [۹] تحلیل شده و یک مدل ریاضی پیشنهاد گردید. در جدول (۲) نتایج آنالیز

متاسفانه میزان حذف آهن توسط این سویه در مقایسه با روشهای مرسوم آهنزدایی مانند CBD [۱۱] یا استفاده از اسیدهای آلی [۱۲] و یا سویههایی دیگر از همین قارچ [۵] که حذف آهن در آنها بین ۷۰ تا ۱۰۰ درصد است، بسیار پایین بوده و محصول عملیات فروشویی زیستی از نظر استفاده در صنعت از کیفیت مناسبی برخوردار نیست. در ستون آخر جدول (۱)، همچنین درصد مصرف قند توسط قارچ در مدت یک ماه فروشویی آورده شده است.

همانطور که در شکل (۲) ملاحظه می شود، pH محیط کشت در طول مدت آزمایش به تدریج کاهش یافته است. علت این مساله تولید اسیدهای آلی در اثر متابولیسم قارچ است. این اسیدها عبارتند از استات، سیترات، اگزالات [۴] و گلوکونات [۵]. برای آهن، اگزالاتیک اسید پنج برابر موثرتر از اسید سیتریک است [۱۳]. این اسید می-

متقابل دو پارامتر A و B است. میزان حذف آهن نیز با IR نشان داده شده است.

واریانس داده‌ها مشاهده می‌شود. در این جدول، چگالی پالپ با حرف A و زمان افزودن خاک به محیط کشت با حرف B نشان داده شده است. همچنین، AB بیانگر تاثیر



شکل (۲): تغییر pH محیط کشت با زمان (◇) چگالی پالپ ۲۰ g/L و خاک در روز اول اضافه شده است، ■ چگالی پالپ ۶۰ g/L و خاک در روز اول اضافه شده است، ▲ چگالی پالپ ۲۰ g/L و خاک در روز سوم اضافه شده است، × چگالی پالپ ۶۰ g/L و خاک در روز سوم اضافه شده است.

جدول (۲): نتایج آنالیز واریانس

Variant	Squares Sum	Degree of Freedom	Squares Average	Statistic of F	Prob > F
model	1.60	3	0.53	20.37	0.0069
A	0.21	1	0.21	8.05	0.0470
B	1.36	1	1.36	51.86	0.0020
AB	0.031	1	0.031	1.19	0.3366
Pure error	0.10	4	0.026	-	-
total	1.71	7	-	-	-

ضرایب و عرض از مبدا مدل در جدول (۳) آورده شده است. علامت منفی ضرایب A و B نشان‌دهنده این است که با افزایش چگالی پالپ و زمان افزودن رس به محیط کشت، درصد حذف آهن از کائولن کاهش می‌یابد. نمودار نحوه تاثیر این متغیرها بر پاسخ در اشکال (۴ و ۵) نیز قابل مشاهده است. شکل (۳) نیز تاثیر متقابل هر دو پارامتر را نشان می‌دهد. در این شکل، خطوط به حالت موازی شبیه هستند که از کم اهمیت بودن تاثیر متقابل A و B حکایت می‌کند.

معادله انحلال آهن توسط *A. niger* NCIM548 از کائولن بر حسب متغیرهای کد شده با استفاده از جدول (۳)، (سطح بالا +۱، سطح پایین -۱) به صورت زیر

مقدار آماره F مدل، ۲۰/۳۷، بیانگر معنی‌دار بودن مدل ارائه شده توسط نرم‌افزار است. تنها ۰/۶۹٪ احتمال وجود دارد که مقدار F در اثر خطا بوجود آمده باشد. مقدار آماره F کمتر از ۰/۰۵۰۰ نشان می‌دهد که پارامترهای موجود در مدل معنی‌دار هستند، همچنین مقادیر بزرگتر از ۰/۱۰۰۰ نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن پارامترهای مدل هستند.

بنابراین در این مدل، متغیرهای چگالی پالپ و زمان افزودن خاک به کشت، معنی‌دار هستند، لیکن تاثیر متقابل آن دو از نظر آماری معنی‌دار نیست. همچنین ضریب قطعیت مدل، $R^2 = ۰/۹۴$ است، که نشان می‌دهد مدل ارائه شده به خوبی بر داده‌های آزمایش منطبق است.

$$IR = +۲/۴۷۵۰۰ - ۰/۱۱۲۵۰ \times (\text{چگالی پالپ}) - ۰/۳۵۸۳۳$$

نوشته می‌شود:

$$\times (2/0.8333E-003 + (\text{روز اضافه کردن خاک})) \times (\text{چگالی پالپ}) \times (\text{روز اضافه کردن خاک})$$

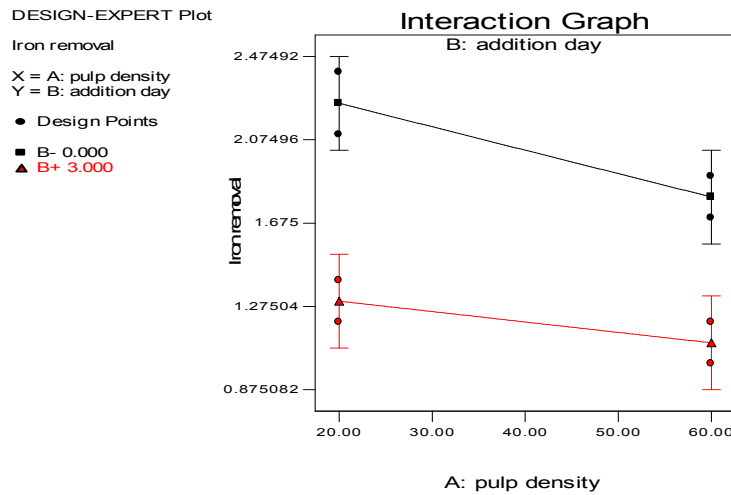
$$IR = +۱/۶۱ - ۰/۱۶ \times A - ۰/۴۱ \times B + ۰/۰۶۲ \times A \times B$$

همچنین معادله بالا بر حسب مقادیر واقعی این

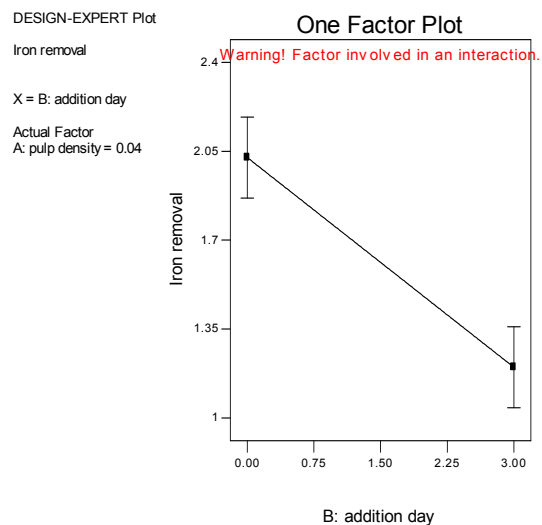
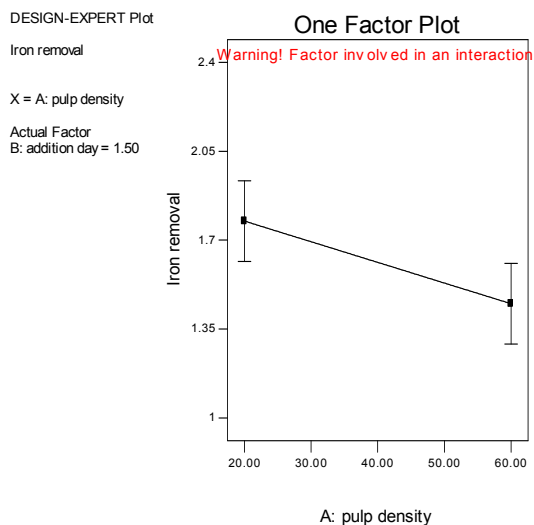
متغیرها به صورت زیر نوشته می‌شود:

جدول (۳): ضرایب هر متغیر و محدوده اطمینان آنها

Variant	Coefficient	Degree of Freedom	Standard Error	Minimum CI 95%	Maximum CI 95%	VIF
Intercept	1.61	1	0.057	1.45	1.77	-
Addition Day of Solid A	-0.16	1	0.057	-0.32	-3.459E-003	1.00
Addition Day of Solid B	-0.41	1	0.057	-0.57	-0.25	1.00
AB	0.062	1	0.057	-0.097	0.22	1.00



شکل (۳): نمودار تاثیر متقابل چگالی پالپ و روز افزودن خاک



شکل (۵): نمودار تاثیر چگالی پالپ بر حذف آهن

شکل (۴): نمودار تاثیر زمان افزودن خاک بر حذف آهن

۴- جمع بندی

[5] Cameselle, C., Ricart, M.T., Nunez, M.J., and Lema, J.M., "Iron Removal from Kaolin. Comparison between in situ and two stage Bioleaching Process", Hydrometallurgy, Vol. 65, (2003) 97-105.

[6] Jeffery, G.H., Basset, J., Mendham, J. and Denny, R.C., "Vogel's textbook of quantitative chemical analysis", Longman Science and Technical, New York, (1989) 690-692.

[7] Nelson, N., "A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose", J. Biol. Chem., Vol. 153, (1944) 375-380.

[8] Somogyi, M., "Notes on sugar determination", J. Biol. Chem., Vol. 195, (1952) 9-23.

[9] Montgomery, D.C., "Design and Analysis of Experiments", John Wiley, New York, (2005) 203-264.

[۱۰] رامز، و.، "فناوری میکروبی در متالورژی"، دانشگاه صنایع و معادن ایران، ۱۳۷۹.

[11] Van, I.H.M. and Dekkers, M.J., "Dissolution Behavior of Fine-Grained Magnetite and Maghemite in the Citrate-Bicarbonate-Dithionite Extraction Method" Earth and Planetary Science Letters Vol. 167, (1999) 283-295.

[12] Ambikadevi, V.R. and Latithambika, M., Effect of Organic Acids on Ferric Iron Removal from Iron-Stained Kaolinite. Applied Clay Science Vol. 16, (2000) 133-145.

[13] Mulligan, C.N., Kamali, M. and Gibbs, B.F., "Bioleaching of Heavy Metals from a Low-Grade Mining Ore Using *Aspergillus niger*", Journal of Hazardous Materials, Vol. 110, (2004) 77-84.

[14] Rymowicz, W. and Lenart, D., "Oxalic acid production from lipids by a mutant of *Aspergillus niger* at different pH", Biotechnology Letters Vol. 25, (2003) 955-958.

نتایج حاصل از فروشویی زیستی با استفاده از *Aspergillus niger* NCIM548، بیانگر این مطلب است که با افزایش چگالی پالپ و زمان افزودن رس به محیط کشت، درصد حذف آهن از کائولن کاهش می یابد. بنابراین، برای افزایش درصد حذف آهن، بهتر است مقدار خاک اضافه شده را تا حدی که باعث کاهش ظرفیت عملیات نگردد، کاهش داد. همچنین، بهتر است خاک در شروع آزمایش به محیط کشت اضافه شود. این سویه در بهترین شرایط تنها ۲/۲٪ از کل ناخالصی آهن موجود در نمونه را حذف کرده است که برای افزایش کیفیت این کانی تا حد مطلوب کافی نبوده و به منظور افزایش راندمان فروشویی می توان از سویه های دیگری از این قارچ یا میکروارگانیسمی که بتواند درصد بیشتری از آهن را حذف نماید استفاده کرد. به علاوه از آنجا که عامل انحلال آهن در این آزمایشها، ترشح اسیدهای آلی مخصوصا اگزالیک اسید به درون محیط کشت میکروارگانیسم است، می توان با تنظیم pH محیط در حدود ۵-۷ تولید این اسید را افزایش داد [۱۴].

مراجع

[1] Stucki, J.W., Goodman, B.A. and Schwertmann, U., "Iron in Soils and Clay Minerals", D. Reidel, Dordrecht, (2005) pp. 83-350.

[2] Kostka, J.E., Haeefe, E., Viehweger, R. and Stucki, J.W., "Respiration and Dissolution of Iron(III)-Containing Clay Minerals by Bacteria", Environ. Sci. Technol. Vol. 33 (1999) 3127-3133.

[3] Lee, E.Y., Cho, K.S. and Ryu, H.W., "Microbial refinement of Kaolin by Iron-Reducing Bacteria", Applied Clay Science, Vol. 22, (2002) 47-53.

[4] Styriakova, I. and Styriak, I., "Iron Removal from Kaolins by Bacterial Leaching", Ceramics-Silikaty, Vol. 44, (2000) 135-141.

Iron Removal from Reza'abad Kaolin Ore by *Aspergillus niger* NCIM 548

MR. Hosseini^{1,3}, M. Pazouki², M. Ranjbar^{3,4}

1. PhD Student of Mineral Processing, Shahid Bahonar University of Kerman.

2. Associate Professor, Environmental Group, Energy Department, Materials and Energy Research Center.

3. Mineral Industries Research Center, Shahid Bahonar University of Kerman

4. Professor of Minerals Engineering Group, Shahid Bahonar University of Kerman.

ARTICLE INFO

Article history :

Received 12 August 2008

Received in revised form 15 April 2009

Accepted 19 May 2009

Keywords:

Aspergillus niger

Kaolin

Iron oxides

Bioleaching

ABSTRACT

Kaolin is a clay mineral that has many industrial applications because of its special characteristics. One of the most important characteristic of this material is its whiteness and brightness. There are a lot of kaolin deposits in Iran that do not have appropriate brightness because of the presence of iron oxides in the ore. In this study, bioleaching of iron oxides by *Aspergillus niger* NCIM548 was applied to remove impurities from kaolin, and a model was presented to predict the extent of iron removal by this strain. Final results showed the removal of 2.2% of the total iron contents from kaolin that is promising for continuing studies in optimal conditions, and by using other strains of this fungus.

All rights reserved.